傍糸球体細胞腫の1例

免疫組織化学的染色, 電顕, in situ hybridization による解析

東京女子医科大学泌尿器科

橋本 恭伸 中沢 速和 奥田比佐志
伊藤 文夫 鬼塚 史朗 木原 健
鈴木 万里 前田 佳子 東間 紘

A JUXTAGLOMERULAR CELL TUMOR

Analysis of Immunohistochemistry, Electron Microscopy and In Situ Hybridization

Yasunobu Hashimoto, Hayakazu Nakazawa, Hisashi Okuda, Fumio Ito,
Shiro Onizuka, Ken Kihara, Mari Suzuki,
Yoshiko Maeda and Hiroshi Toma

Department of Urology, Tokyo Women's Medical College, Tokyo, Japan

We present a case of juxtaglomerular cell tumor measuring 8 mm in diameter in the right kidney. The hypertension was cured and plasma renin activity returned to normal level following tumor resection with partial nephrectomy. We studied histopathologic, electron microscopic, and immunohistochemical findings of the tumor. The majority of tumor cells stores renin granules in cytoplasm. In situ hybridization confirmed us that the most tumor cells produce renin. We use the digoxigenin labeled 0.6-kb length RNA probe of human renal renin. the specificity was analyzed by competition assay (1:50).

Key words: juxtaglomerular cell tumor, in situ hybridization, renin

要旨: 今回我々は、右腎に発生した直径8mmのjuxtaglomerular cell tumorを経験した。治療は悪性腫瘍に準じた腎部分切除術を行い、血圧、血漿レニン活性ともに正常化した。抗レニン抗体による免疫組織化学的染色、電顕、抗レニンによる免疫電顕をおこない、多くの腫瘍細胞の細胞質にレニン顆粒を確認した。レニンに対するin situ hybridizationを行い、大部分の腫瘍細胞の細胞質にレニン messenger RNAの局在を証明した。プローブはヒトレニンの600塩基対のジゴキシゲニンによる標識RNAプローブを用い、非標識プローブによる50倍の競合反応によりシグナルが減弱するものを確認した。

キーワード: 傍糸球体細胞腫, in situ hybridization, renin

緒 言

Robertsonらの報告以来、現在までに44例のjuxtaglomerular cell tumor (JGCT) が報告されている^{10)~12)13)}。主症状はレニンにより増強されたアンジオテンシンIIによる二次性アルドステロン症である。本症は頻度は稀であるが、治癒できる高血圧として重要である¹⁵⁾。今回我々は右腎に発生した直径8mmのJGCTを経験した。従来報告では細胞質のレニン顆粒は、Bowie染色、電顕¹³⁾、免疫組織学的染色で証明がされている⁷⁾。本症例ではこれらに加え、non-isotope in situ hybridization (ISH) により腫瘍細胞でのレニ

ン産生を検討した。治療は悪性腫瘍に準じた腎部分切除術を行った。

症 例

患者: 31歳, 男性。

主訴: 高血圧。

既往歴: 特記すること無し。

現病歴: 7年間の高血圧治療にもかかわらず高血圧悪化を認めたため精査したところ、末梢血血漿レニン活性、アルドステロン値の高値を指摘された。

入院時現症: 身長175cm, 体重58kg, 血圧160/100 mmHg, 胸腹部に現症的異常を認めず、腹部血管性雑

音も聴取しない。

入院時検査所見：検尿、血液生化学所見に異常なし。末梢血血漿レニン活性286.9ng/ml/hour, アルドステロン15.2ng/dl。

画像診断：レノグラム、大動脈造影にて腎血管性高血圧を否定した。腎静脈レニン活性は右14.6, 左11.7 ng/ml/hour, 左右比1.25 (rt>lt) だった。

CT では右腎中極の被膜直下に直径8mm の low density な腫瘍を認め、造影効果は示さなかった (図1)。MRI では T1で low, T2で high intensity だった。

手術および術後経過：右腎 JGCT 疑いにて、悪性腫瘍に準じた腎部分切除術を行った。腎動静脈を確保後、クラッシュアイスで冷却。腫瘍径が小さいため術中エコーで腫瘍を確認し、正常組織を5~10mm つけ腫瘍を切除した。腫瘍は直径8mm, 黄色で、中央には軽度の出血部位を認めた。術後は正常血圧(140/70mmHg)に回復した。

病理組織学的所見：摘出した標本は以下の手順にしたがい病理学的検索を行った。免疫組織学的染色にウサギ抗ヒトレニン抗体を用い streptavidin-biotin 法にて行った。電顕用標本はパラフィンブロックより作成し、免疫電顕は Gout α Rabbit IgG Gold を用いた。電子顕微鏡は日立 H-800にて観察した。

ISH のヒトレニンプロローブは、正常腎組織より産生した cDNA library を基に sense probe-CTCACCCCTCCGCTATTCAAC (bases 112~131), antisense probe-GCGTGTATTCTTTGCCTCCC (bases 696~715) を用い RT-PCR を行い603塩基のプロローブを得た。これを TA クローニング法にて pGEM vector (promrga) に組み込み、DIG RNA labelling kit (Boehringer) を用いてヒトレニンリボプロローブを作成した。陽性コントロールはヒト16S リボゾームのオリゴプロローブを用いた。

標本は 4%paraformaldehyde 固定, 30% sac-

図1 右腎中極被膜下に直径8mm のエンハンスされない腫瘍を認める。

charose 置換後, O.C.T. compound 包埋, 凍結したものを5 μ m にスライスした。塩酸, Tween-20, Proteinase-K 処理後, 4%paraformaldehyde 固定し50度16時間ハイブリダイゼーションを行った。ハイブリダイゼーション溶液は50%formamide, 5%dextran sulfate, 2 $\times$ SSC, 5 $\times$ Denhardt's, salmon sperm DNA, tRNA にプローブを加え用いた。RNase 反応後アルカリフォスファターゼを用い発色反応を行った。競合反応は50倍の濃度の非標識レニン RNA プローブを用いて行った。

結 果

腫瘍の直径8mm, 被膜は一部確認できない部位があり不全であった。しかし腫瘍細胞が正常組織に浸潤する像は認めなかった。H.E. 染色では腫瘍内部には sinusoid 様に拡張した毛細血管を多く含み、その間に柵状に配列する polygonal な中型の腫瘍細胞を認める。尿管成分は認めず, mast cell の軽度の浸潤と腫瘍内動脈壁の高度の肥厚を認めた (図2上図)。腫瘍細胞の核は小型から中型でクロマチンと薄い核膜を認め、核小体は目立たない。胞体は比較的豊富で、内部に好酸性の顆粒を含む。

抗レニン抗体による組織化学的染色では大部分の腫瘍細胞の細胞質にレニン顆粒の局在を認めた (図2下図)。

電顕では、細胞質のゴルジ体に接近して菱形、あるいは均質な electron dense 顆粒を認めた (図3上図)。これらの顆粒は免疫電顕で抗レニン抗体の集積が認められ、レニン抗体に反応する菱形あるいは均質なレニン顆粒であることがわかる (図3下図)。また rough endoplasmic reticulum が発達している。

ISH ではレニン messenger RNA (mRNA) はほとんどの腫瘍細胞に局在し、大部分の腫瘍細胞でレニンの産生があることがわかった (図4上図)。腫瘍内の血管内皮細胞、正常組織では反応しなかった。RNase 前処理、レニンセンスプロローブにてシグナルは消失し、非標識レニン RNA プローブとの競合反応 (1:50) でシグナルが減弱することを確認した (図4下図)。

考 察

juxtaglomerular cell に類似した polygonal な間葉系腫瘍細胞と毛細管で構成され、レニン高値による高血圧が腫瘍切除により治癒する腫瘍を、Robertson および木原らは juxtaglomerular cell tumor と名付けた¹⁰⁾¹²⁾。

以来これまでに文献上44例が報告されている。発症年齢は6歳から69歳平均25.4歳と若年に多く、男女比は1:1.4であった。症状は増強されたアンギオテンシ

図2 (上図) sinusoid 様に拡張した尿細管の間に腫瘍細胞を認める。(下図) 免疫組織化学的染色では大部分の腫瘍細胞にレニン顆粒を認める。

図3 (上図) 電顕では electron dense な顆粒を認める。(下図) 免疫電顕では rhomboid あるいは homogeneous な顆粒に抗レニン抗体が集積した。

ンIIによる高血圧であり、低K血症を伴うことがある。他の二次性アルドステロン症との鑑別が必要となる¹⁵⁾。

組織は hemangiopericytoma に類似し、レニン顆粒の証明は Bowie 染色あるいは電顕での electron dense 顆粒の存在で行われていた¹¹⁾³⁾。しかし Bowie 染色では非特異的な結合もあることから、抗レニン抗体による免疫組織学的染色が行われてきている⁷⁾。今回の症例での拡張した毛細血管とその間に配列する polygonal な腫瘍細胞はこれまでの記述と一致し、免疫組織学的染色では細胞質に局在するレニンが証明されている。電顕では種々な electron dense 顆粒が報告されているが、本症例では抗レニン顆粒を証明した。前者は未熟な顆粒、後者は成熟した顆粒といわれている¹⁾。

ISH は mRNA を細胞レベルで同定することができる。どの細胞がレニンを産生しているかを検出することができる。レニン ISH はこれまでは isotope 法で行われてきたが³⁵⁾、今回われわれは non-isotope 法にて証明した。陽性コントロールとして同一切片の非腫瘍部

にある JG apparatus も観察したがレニン mRNA を表すシグナルは検出されなかった。同様の現象を Hollifield らも報告しており、腫瘍周囲が高レニン濃度になっているため正常 JG 細胞のレニン産生が抑制されているためと考えられている⁹⁾。今回用いたプローブはレニン cDNA の塩基配列を鋳型にして作成していること、競合反応でシグナルが減弱する事からこの RNA プローブはレニンを認識しているものと考えた。ISH では免疫組織化学的染色と同様に大部分の腫瘍細胞が染色され、多くの腫瘍細胞がレニンの産生と貯蔵の両方を担っていることを示している。

治療は腎摘出術が基本であるが、近年腎部分切除術が行われてきており現在までに14例が報告されている¹¹⁾¹³⁾。これらの成績を見ると腎全摘例と同じく全例高血圧は治癒あるいは軽快している。JGCT は悪性化した症例は報告されておらず良性腫瘍とされているが⁸⁾、腎部分切除術症例でも転移、再発は報告されていない。発症年齢が低いこともあわせると、JGCT は腎部分切除術の適応になると思われた。切除範囲に関しては、JGCT にもわずかながら浸潤傾向のある症例が

図4 (上図) ISH でも、大部分の腫瘍細胞の細胞質にレニン mRNA の局在を認める。(下図) 競合反応にてシグナルの減弱を認める。

報告されていること¹¹⁾、1例であるがカプセル外に3 mm の結節があることが報告されていること⁴⁾、他のレニン産生性腎腫瘍 (Wilms 腫瘍, mesoblastic nephroma, renal cell carcinoma) があることから⁶⁾⁹⁾¹⁴⁾、悪性腫瘍に準じた腎部分切除術が望ましいと思われる。

謝辞：ウサギ抗レニン抗体をわけていただいた岐阜大学農学部鈴木文昭先生、ならびに免疫組織化学的染色、電顕、免疫電顕をしていただいた堀田 茂殿 (東京女子医科大学腎臓病総合医療センター病理部) に深謝いたします。

なお本論旨は第59回日本泌尿器科学会東部総会にて報告した。

文 献

- 1) Barajas, L., Bennett, C.M., Connor, G. and Lindstrom, R.R.: Structure of a juxtaglomerular cell tumor: The presence of a neural component. *Lab. Inv.*, **37**, 357—368, 1977.
- 2) Baruch, D., Corvol, P., Alhenc-Gelas, F., Dufloux, M.A., Guyenne, T.T., Gaux, J.C., Raynaud, A., Brisset, J.M., Duclos, J.M. and Menard, J.: Diagnosis and treatment of renin-secreting tumors. *Hypertension*, **6**, 760—766, 1984.
- 3) Biava, C.G. and West, M.: Fine structure of normal human juxtaglomerular cells, general structure and intercellular relationships. *Am. J. Pathol.*, **49**, 679—721, 1966.
- 4) Bonnin, J.M., Cain, M.D., Jose, J.S., Mukherjee, T.M., Perrent, L.V., Scroop, G.C. and Seymour, A.E.: Hypertension due to a renin-secreting tumour localised by segmental renal vein sampling. *Aust. N.Z.J. Med.*, **7**, 630—635, 1977.
- 5) Brunecal, P., Fournier, J., Soubrier, F., Belair, M.F., Silva, J.L., Guettier, C., Pinet, F., Tardivel, I., Corval, P., Bariety, J. and Camilleri, J. P.: Detection and localization of renin messenger RNA in human pathologic tissues using in situ hybridization. *Am. J. Pathol.*, **131**, 320—330, 1988.
- 6) Coppes, M.J.: Serum biological markers and paraneoplastic syndromes in Wilms tumor. *Med. Pediatr. Oncol.*, **21**, 213—221, 1993.
- 7) Dennis, R.L., McDougal, W.S., Glick, A.D. and Macdonall, R.C.: Juxtaglomerular cell tumor of the kidney. *J. Urol.*, **134**, 334—338, 1985.
- 8) Haab, F., Duclos, J.M., Guyenne, T., Plouin, P. F. and Corvol, P.: Renin secreting tumors: Diagnosis, conservative surgical approach and long-term results. *J. Urol.*, **153**, 1781—1784, 1995.
- 9) Hollifield, J.W., Page, D.L., Smith, C., Michalak, A.M., Sttab, E. and Rhamy, R.: Renin-secreting clear cell carcinoma of the kidney. *Arch. Intern. Med.*, **135**, 859—864, 1975.
- 10) Kihara, I., Kimata, S., Hoshino, T., Seida, H. and Watanabe, T.: A hitherto unreported vascular tumor of the kidney: A proposal of "juxtaglomerular cell tumor". *Acta Pathol. Jap.*, **18**, 197—206, 1968.
- 11) Kodet, R., Taylar, M., Vavhalova, H. and Pycha, K.: Juxtaglomerular cell tumor. *Am. J. Surg. Pathol.*, **18**, 837—842, 1994.
- 12) Robertson, P.W., Klidjian, A., Harding, L.K., Walters, G., Lee, M.R. and Robb-amith, A.H.T.: Hypertension due to a renin-secreting renal tumor. *Am. J. Med.*, **43**, 963—976, 1967.
- 13) Teru, B., Vaillancourt, F.L., Camilleri, J.P., Bernier, L. and Tourigny, R.: Juxtaglomerular cell tumor of the kidney: Report of two cases with papillary pattern. *Human Pathol.*, **24**, 1168—1174, 1993.
- 14) Tsuchida, Y., Shimizu, K., Hata, J., Honna, T. and Nishiura, M.: Renin production in congenital mesoblastic nephroma in comparison with that in Wilms' tumor. *Pediatr. Pathol.*, **13**, 155—164, 1993.
- 15) 猿田享男：レニン産生腫瘍。日本臨床, **50**, 703—706, 1992.

(1997年8月21日受付, 1998年4月16日受理)